

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：34504

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26650097

研究課題名(和文) 量的遺伝子座(QTL)解析によるC4化ゲノム変異の同定

研究課題名(英文) Identification of genome mutation that induce C4 evolution by Quantitative Trait Locus (QTL) analysis

研究代表者

宗景 ゆり (Munekage, Yuri)

関西学院大学・理工学部・准教授

研究者番号：30423247

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：C4型への進化に関わるゲノム変異を明らかにするために、キク科Flaveria属植物においてC3型からC4型への進化の途中に位置するC3-C4中間種とC4様種のF2交雑集団を用いて、量的遺伝子座解析を行った。クランツ構造の形成、C4代謝酵素の発現量と発現領域に着目して解析を行った結果、C4代謝酵素の発現量を決定する因子は発現領域やクランツ構造の形成に関わる因子と異なる可能性が示唆された。Fluorescence in situ hybridization (FISH)法により、染色体マーカーとなる26S rDNAおよび5S rDNAの可視化がFlaveria属植物において可能となった。

研究成果の概要(英文)：To identify the genome mutation that induce C4 evolution, we performed Quantitative Trait Locus (QTL) analysis in F2 progeny of hybrids between C3-C4 intermediate species and C4-like species of genus Flaveria. Our results suggested that expression level of C4 cycle enzymes was regulated by different factors that regulate expression region of C4 cycle enzymes or Kranz anatomy. We also succeeded to visualize 26S and 5s rDNA as a chromosome marker in genus Flaveria by Fluorescence in situ hybridization.

研究分野：植物生理

キーワード：光合成

1. 研究開始当初の背景

トウモロコシやソルガムに代表されるように、 C_4 型光合成を営む C_4 型作物は、 CO_2 濃縮機能を持つため、亜熱帯・温帯・半乾燥地帯での生産性が非常に高い。作物のほとんどは C_3 型であるが、それらに C_4 型の形質を付加することができれば、世界の作物生産性を飛躍的に向上させることができる。 C_4 型の形質を C_3 作物に付加させる試みは、これまで国内や海外の研究者らによって広く行われてきた。これらのプロジェクトでは、 C_3 型植物に C_4 型代謝酵素を高発現させることで、 C_4 化を狙っているが、現時点では成功していない。この問題点として、維管束鞘細胞の発達や、代謝バランス、代謝を駆動する ATP と NADPH の生産バランスが考慮されていないことが挙げられる。進化の過程において、 C_4 型光合成は、60 以上もの異なる被子植物系統で独立に獲得されている。この事は、 C_4 型光合成が、多くの C_3 型植物が潜在的に持っている代謝や遺伝子発現システムを利用して、比較的容易に獲得された可能性を示唆している。 C_4 型への進化を引き起こしたゲノム変異を同定することができれば、進化過程を模倣した遺伝子改変による C_4 化分子育種が可能になる。

2. 研究の目的

本研究では、従来のような、 C_4 型酵素群の導入による C_3 型作物の C_4 化ではなく、進化過程を模倣した遺伝子改変による C_4 化分子育種を目指して、 C_4 型への進化に関わるゲノム変異を明らかにする。*Flaveria* 属植物 (キク科) には、 C_3 型から C_4 型への進化の途中に位置する C_3 - C_4 中間型の種が数多く現存し、これらのうち C_3 - C_4 中間種と C_4 型に近い C_4 様種の間では交配可能である。 C_3 - C_4 中間種と C_4 様種

の F_2 交雑集団を用いて、量的遺伝子座 (QTL) 解析を行う。

3. 研究の方法

C_4 化の形質の中で、 C_4 型代謝酵素群の遺伝子発現制御に焦点を当て、 C_4 型代謝酵素群の発現量の上昇に関わる QTL の同定を行う。QTL 解析には、 C_3 - C_4 中間型 *F. floridana* と C_4 様種 *F. brownii* の交配により得た F_2 集団を用いる。*F. floridana* と *F. brownii* のゲノム配列情報を整備するために、ゲノムライブラリーを作製して次世代高速シーケンス解析を行い、全ゲノム塩基配列の連結配列をさらに位置関係に基づき整列させたスキャフォールドを構築する。これらの遺伝子情報をもとに、*F. floridana* と *F. brownii* 間の DNA 多型探索を行い、分子マーカーを作製する。*F. floridana* と *F. brownii* の F_2 集団の C_4 型酵素の発現量と発現領域、クランツ構造の形成について表現型の連鎖解析および分子マーカーの遺伝型の連鎖解析を行う。

4. 研究成果

1) F_2 集団を用いた表現型解析

C_4 様種 *F. brownii* では、 C_4 型に特異的なクランツ構造が観察されるが C_3 - C_4 中間種 *F. floridana* では、この構造は観察されない。*F. floridana* × *F. brownii* の F_1 ハイブリッド植物体ではクランツ構造がみられなかった。また、 F_2 集団の解析を行った結果、この構造が現れる頻度はおよそ 25-30%であることが明らかになった。従ってこの形質は、劣性であり一遺伝子座の変異に由来することが示唆された。

2) C_4 代謝酵素の発現量解析

C_4 代謝酵素の発現量は、 F_2 集団において、 C_3 - C_4 中間種 *F. floridana* に相当する低レベルの発現量から、 C_4 様種 *F. brownii* の発現レベルを上回る発現量を示す個体まで、さまざま

までであることが明らかになった。高レベルの発現量を示す個体が4分の3以上であることまた、*C₄* 様種 *F. brownii* の発現レベルを上回る発現量を示す個体が出現することから、発現量の上昇にかかわる因子は優勢であり、また、2 因子以上の異なる変異が関わる可能性が示唆された。

また、それぞれの *C₄* 代謝酵素をコードする遺伝子が存在するゲノム上の分子マーカーを用いて、連鎖解析をおこなったところ、F2 集団においてそれぞれの *C₄* 代謝酵素の遺伝子座の遺伝子型と遺伝子発現量は連鎖せず、分離することが明らかになった。

3) NADP-ME mRNA 発現領域の解析

NADP-ME は、*C₄* 様種 *F. brownii* では維管束鞘細胞特異的に発現するのに対し *C₃-C₄* 中間種 *F. floridana* では、葉肉細胞と維管束鞘細胞の双方に発現する。*F. floridana* × *F. brownii* のF2集団を用いた解析を行った結果、NADP-ME の維管束鞘細胞特異的な発現は、クラッツ構造やNADP-ME の発現量と連鎖しないことが明らかになった。

4) FISH 法による染色体の可視化

全ゲノム配列の情報基盤最も整っている *Flaveria bidentis* を用いて Fluorescence in situ hybridization (FISH)法により、染色体マーカーとなる 26S rDNA および 5S rDNA の可視化を行った。マルチカラーFISH 法により 26S rDNA と 5S rDNA は異なる一対の染色体上に存在することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

1. Munekage, Y.N. (2016) Light harvesting and chloroplast electron transport in

NADP-malic enzyme type *C₄* plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 31:9-15. (査読有)

2. Munekage Y.N., Taniguchi Y.Y. (2016) Promotion of cyclic electron transport around photosystem I with the development of *C₄* photosynthesis. *Plant Cell Physiol.* 57:897-903. (査読有)

3. 宗景ゆり (2015) *C₄* 型光合成の進化過程から *C₄* 化の鍵を探る 光合成研究 25, 212-219. (査読有)

4. 宗景ゆり, 谷口幸美 (2015) *Flaveria* 属植物の解析から見える *C₄* 型進化モデル植物。「植物科学の最前線」BSJ-Review 7A:20-27 (査読無)

[学会発表](計11件)

1. 小林加奈, 中村有哉, 森川かおる, 横田明穂, 谷口(山本)幸美, 宗景(中島)ゆり NADP-ME 型 *C₄* *Flaveria bidentis* における循環型電子伝達で機能する NDH 複合体及び PGR5-PGRL1 複合体の光合成への寄与 第58回日本植物生理学会年会 2017.3.16-18 鹿児島大学郡元キャンパス 鹿児島県鹿児島市

2. 奥殿健, 谷口(山本)幸美, 宗景(中島)ゆり *Flaveria* 属 *C₄* 種の本葉の発達過程における *FbDOF* の発現パターン解析 第58回日本植物生理学会年会 2017.3.16-18 鹿児島大学郡元キャンパス 鹿児島県鹿児島市

3. 花田裕昭, 谷口(山本)幸美, 西村健司, 坂本亘, 古本強, 宗景(中島)ゆり *C₄* 種 *Flaveria bidentis* における RETICULATE-RELATED3 の局在解析 第58回日本植物生理学会年会 2017.3.16-18 鹿児島大学郡元キャンパス 鹿児島県鹿児島市

4. 岡美慧, 谷口幸美, 宗景(中島)ゆり キク科 *Flaveria* 属形質転換系と遺伝子発現誘導系の確立 第68回日本生物工学会大会 2016.9.28-30 富山国際会議場 富山県富山

市

5. Munekage Y.N Role of cyclic electron transport around photosystem I in NADP-ME type C_4 *Flaveria*. Satellite workshop on C_4 photosynthesis. 5-6th August 2016 in Düsseldorf, Germany (招待講演)

6. Munekage Y.N Light harvesting and chloroplast electron transport in NADP-malic enzyme type C_4 plants. C4:50: Photosynthesis Conference 2016: Past, Present and Future. 10-13th April 2016 in Canberra, Australia (招待講演)

7. 宗景ゆり 作物の C_4 分子育種を目指した光合成進化研究 産学連携フォーラム 2016年2月29日、神戸大学 兵庫県神戸市

8. 宗景ゆり C_4 光合成における葉緑体 NDH 複合体の役割 第57回日本植物生理学会年会シンポジウム 2016年3月20日 岩手大学 上田キャンパス 岩手県盛岡市

9. 宗景ゆり *Flaveria* 属植物の解析から見える C_3 型から C_4 型光合成への進化モデル、第6回日本光合成学会年会シンポジウム 2015年5月23日 岡山国際交流センター 岡山県岡山市

10. 宗景ゆり、井上史生、谷口幸美、横田明穂 *Flaveria* 属 C_3 - C_4 中間型 *F. floridana* と C_4 様型 *F. brownii* の交雑 F2 集団を用いた C_4 型進化過程の遺伝学的解析 日本植物生理学会年会 2015年3月16日~18日 東京農業大学 東京都世田谷区

11. 宗景ゆり *Flaveria* 属植物の進化過程から見える C_4 型進化モデル 2014年9月12日~14日 日本植物学会 明治大学生田キャンパス 神奈川県川崎市 (招待講演)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宗景 ゆり (MUNEKAGE, Yuri)

関西学院大学・理工学部/大学院理工学研究科・准教授